Münster 1936 No 40 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.
(Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten)

Über Milchzucker vergärende Ruhrerreger und ihre diagnostische Trennung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster / Westf.

verfaßt und vorgelegt von

Franz Coersmeier

aus Burgsteinfurt i. Westf.

1935

Gedruckt in der Buchdruckerei Franz Grube, Werne a. d. Lippe

Dekan: Professor Dr. K. W. Jötten

Referent: Professor Dr. Fr. Sartorius

Korreferent: Professor Dr. K. W. Jötten

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Meinen Eltern
in Dankbarkeit!

Ueber Milchzucker vergärende Ruhrerreger und ihre diagnostische Trennung.

In den letzten Jahrzehnten haben eine Reihe von Arbeiten unsere Kenntnisse bezüglich der einzelnen Ruhrerreger stark erweitert. So sind einmal neben der Shiga-Kruse und der Schmitz-Ruhr die verschiedenen Rassen der Flexner-Ruhr weitgehendst verglichen und festgelegt worden. Fernerhin ist man darauf aufmerksam geworden, daß neben den meisten schon bekannten Typen der Kruse-Sonne-Ruhr allem Anschein nach noch weitere Milchzucker vergärende grammnegative Keimarten als Ruhrerreger in Frage kommen. Die Kruse-Sonne-Ruhr, auch als Pseudo-Ruhr-E bezeichnet, scheint dabei nach den Arbeiten von Murakami und Tanaka zunächst wieder in verschiedene serologisch unterscheidbare Typen zu zerfallen. Murakami wies hier zunächst zwei gesonderte Typen, als Typ Aoki und Typ Ohara bezeichnet, nach. Tanaka konnte bei einer weiteren Untersuchung innerhalb der E-Ruhr-Rasse sogar 5 Typen nachweisen. Obwohl Nachuntersuchungen hierüber noch ausstehen, läßt sich vermuten, daß die sorgfältigen Feststellungen der japanischen Forscher zu Recht bestehen. Die erste Angabe über weitere Milchzucker vergärende Ruhrerreger kam sodann von Castellani und seinen Mitarbeitern. Castellani bezeichnete die Milchzucker vergärenden Typen als Metadysenterie-Bazillen und unterschied einmal einen Typus Ceylonensis A von einem Typus Ceylonensis B und einen Typus Madampensis. Unter Berücksichtigung dieser Metadysenterie-Typen teilt er die gesamten Ruhrbazillen ein in:

a) die echte Dysentrie,
b) die Paradysenterie-Typen (d. s. die Flexner-Rassen),
c) die Metadysenterie-Bazillen.

Zu dieser Einteilung ist von vorneherein zu bemerken, daß sie nicht den Schmitz-Ruhr-Bazillus miterfaßt, daß ferner der Typ Ceylonensis A mit der Pseudo-Ruhr-E nach Cerruti identisch ist.

Neuerdings hat Shiga selbst unter Berücksichtigung der neuen Ergebnisse eine neue Einteilung vorgeschlagen, welche die gesamten Ruhrerreger trennt in:

a) die Shiga-Kruse-Bazillen (echte Ruhr-Bazillen),
b) die Metadysenterie-Bazillen (umfassend die Schmitz-Ruhr und die Flexner-Ruhrrassen),
c) die Pararuhrbazillen (umfassend die Milchzucker vergärenden Typen).

Welche Einteilung die zweckmäßigste ist, die alte von Kruse, Castellani's oder Shiga's soll hier nicht weiter erörtert werden. Vielmehr sollen die folgenden Untersuchungen in der Hauptsache dazu dienen, die bisher gemachten Beobachtungen über die sogenannten Metadysenteriebazillen (Castellani's) im Vergleich zur Pseudo-Ruhr E (Kruse's) und im Vergleich zu einigen Milchzucker vergärenden Stämmen, die in der Münsterischen Universitäts-Kinder-Klinik als einwandfreie Erreger ruhrartiger Erscheinungen in Reinkultur gezüchtet wurden, zu prüfen und zu erweitern.

Zur Charakterisierung der letztgenannten Stämme aus Münster sei folgendes vorausgeschickt: Benannt wurden diese drei Stämme mit den Zeichen: Münster 7, Münster 10 und Münster 18.

Mü 7 ist ein Stamm von einer schweren Kinderdysenterie mit täglich 5 schleimig-breiigen Stühlen.

Auch Mü 10 stammt von einer schweren Kinderruhr mit täglich 3—5 schleimig-blutig-breiigen Stühlen.

Mü 18 wurde rein-gezüchtet bei einem Fall von Dysenterie mit täglich 6—7 durchfälligen Stühlen, die teils schleimig, teils blutig waren.

Mü 7 und Mü 10 zeigten lebhafte Beweglichkeit, während die Stäbchen des Stammes Mü 18 unbeweglich waren.

Alle drei Stämme bildeten in Trypsin-Bouillon Indol, sowie Gas in Neutralrotagar und vergoren Milchzucker. Sie wurden auf Endoplatten ausgestrichen und ihr Wachstum beobachtet. Dabei zeigte sich folgendes:

Mü 7 wuchs auf Endoagar in bläulich-weißen Kolonien mit glattem Rand und von lamellös-körnigem Bau. Die kleinen Kolonien waren bläulich-grau, die großen hatten ein gerötetes Zentrum. Neben ausgesrochenen rauhen Formen fanden sich

glatte mit wolkiger Trübung. Die Ränder waren rauh bezw. unscharf. Die Unterschiede ließen sich nicht weiterzüchten, denn die nächste Weiterimpfung verschiedener Kolonien ergab ein einheitliches Bild mit grau-weißen Kolonien von lamellös-körnigem Bau.

Mü 10 zeigte das gleiche Verhalten wie Mü 7.

Mü 18 lieferte auf Endoagar weiße, undurchsichtige Kolonien mit rauhem Rand. Es wurden viele rote Knöpfe gebildet. Mit der Zeit wurden die Kolonien rot. Nach drei Tagen wurde abgeimpft und eine mäßigere Knopfbildung beobachtet. Bei einer nochmaligen Abimpfung 4 Tage später zeigte sich wieder deutliche Knopfbildung.

Von Sartorius wurden mit diesen Reinkulturen und zum Vergleich außerdem mit typischen Coli-Stämmen Fütterungsversuche bei Hühnern ausgeführt. Es zeigte sich, daß tatsächlich die von den Kinderdysenteriefällen stammenden Reinkulturen auch bei Hühnern ein ruhrähnliches Krankheitsbild hervorriefen, während die echten Coli-Stämme keine Besonderheiten ergaben.

Als Beispiel für den Verlauf der Erscheinungen während der Fütterung sei ein Versuch mit dem Stamm Mü 7 angeführt.

Schon vom zweiten Tage an nach Beginn der Fütterung mit Mü 7 zeigte sich an den Stühlen des infizierten Huhnes eine Konsistenzverminderung mit zunehmenden Schleimbeimengungen. Die Freßlust ließ nach, das Huhn machte einen kranken Eindruck. Die Erscheinungen waren die gleichen, wie man sie bei Fütterungen von Flexner-Ruhrtypen bei Hühnern zu sehen bekommt. Aus den Stühlen konnten die gefütterten Bazillen leicht wieder in ihrer typischen Form herausgezüchtet werden. Demgegenüber blieben die Stühle des mit typischem Coli gefütterten Huhnes bei längerer Zeit hindurch getätigten täglichen Untersuchungen zahlenmäßig gleich. Auch die Konsistenz der Stühle blieb normal. Nur am 6. und 7. Tage war eine gewisse Konsistenzverminderung festzustellen, ohne aber von einer Durchfälligkeit reden zu können. Aus den Stühlen wurden Coli-Bazillen gezüchtet, am 6. und 7. Tage auch reichlich Enterokokken.

Der pathogene Charakter dieser Mü-Stämme ließ sich also auch in Tierversuchen nachweisen, allerdings ergaben nach Jahresfrist wiederholte Fütterungen mit den gleichen Stämmen nicht mehr mit Sicherheit das gleiche Resultat. Sartorius hatte aber Gelegenheit, nochmals von anderer Seite einen ganz

ähnlichen Stamm von einer schweren Kinderdysenterie zu züchten und zu füttern. Auch dieser Stamm K 17 ergab bei der Fütterung frisch nach der Herauszüchtung schwere Krankheitserscheinungen, später aber ebenfalls nicht mehr, sodaß wahrscheinlich mit einem baldigen Virulenzverlust dieser Art von Erregern gerechnet werden muß.

Die zu den nachfolgenden vergleichenden Versuchen nötigen Metadysenteriestämme wurden von C a s t e l l a n i selbst freundlichst zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um die nach C a s t e l l a n i benannten Stämme Cast. AD; Cast. Z und Cast. Sh., die zu der Gruppe des Bazillus Ceylonensis A zu zählen sind, ferner um die Stämme Cast. Orig.; Cast. LV; Cast. RW und Cast. RR als Vertreter der Gruppe des Bazillus Ceylonensis B, sowie den Stamm Cast. H, der identisch ist mit dem Bazillus Madampensis.

Als Vergleichsmaterial wurden herangezogen die zur E-Rasse gehörigen Stämme E 690; E 700; E 708; E 721 und E 1120, sowie die oben beschriebenen Münster-Stämme Mü 7; Mü 10 und Mü 18.

Zunächst wurden diese drei Gruppen Milchzucker vergärender Ruhrtypen auf ihre biologischen Eigenschaften hin geprüft. Es wurde eine „Bunte Reihe" von Nährböden, bestehend aus Milch, Trypsin-Bouillon, Neutralrotagar, Saccharose, Rhamnose und Barsiekow II mit den oben genannten Stämmen beschickt und ihre Wirkung 14 Tage hindurch täglich beobachtet. Dabei ergab sich folgendes (siehe auch Tabelle):

1 Die mit den Stämmen der E-Rasse versetzte M i l c h gerann am 6.—10. Tage. Auch die Vertreter der Gruppe des Bazillus Ceylonensis A zersetzten die Milch am 7.—10. Tage. Die Gruppe des Bazillus Ceylonensis B brachte die Milch am 6.—12. Tage zur Gerinnung, der Bazillus Madampensis am 7. Tage und die Münster-Stämme am 6.—8. Tage.

2. In der T r y p s i n - B o u i l l o n war nach 24 Stunden bei sämtlichen E-Stämmen und den Castellani-Stämmen des Bazillus Ceylonensis A keine Indolbildung, während die Indolreaktion bei der Gruppe des Bazillus Ceylonensis B, sowie dem Bazillus Madampensis und den Münster-Stämmen positiv war.

3. I n N e u t r a l r o t a g a r wurde von allen E- und Castellani-Typen kein Gas gebildet, die Münster-Stämme dagegen pro-

duzierten innerhalb eines Tages in hohem Grade Gas und Fluoreszenz.

4. Die Lakmusmolke wurde von allen E-, Castellani- und Münster-Stämmen binnen eines Tages gerötet. Die Vertreter der Gruppe des Bazillus Ceylonensis A bewirkten vom 6. Tage ab eine weitere, wenn auch geringe Reaktion, indem die Rötung einen Stich ins Violette bekam. Die Stämme des Bazillus Ceylonensis B und der Bazillus Madampensis bewirkten vom 8. bzw. 9. Tage ab einen Bodensatz. Dieselbe Wirkung, allerdings weniger stark, hatten auch die Münster-Stämme, nachdem sie die gerötete Lakmusmolke leicht aufgehellt hatten.

Tabelle 1.

Das biologische Verhalten der Milchzucker vergärenden Ruhrtypen.

Metadysentrie-Gruppe

E-Rasse E700; 660; 708, 721; 1120;	Bac. ceylonensis A. Cast: AP; PD; Sh; Z,	Bac. ceylonens. Cast. LV; Orig. RW; RR	Bac. madampensis Cast. H.	Coliartige Ruhrtypen Mu 7; 10; 18;
Milch	Gerinnung am 6.-10. Tage	Gerinnung am 6.-12. Tage		Gerinnung am 6-8 Tage
Trypsin Boullon	Negative Indolreaktion		Positive Indolreaktion	
Neutralrotagar	Keine Gasbildung			Gasbildung + Fluoreszenz
Lackmusmolke	1. Tag Rötung	1. Tag Rötung, v. 6. Tg. Stich ins violette	1. Tag Rötung 8. bzw. 9. Tag Bodensatz	1. Tag Rötung ab 5.-6. Tag Aufhellung 9. Tg. Bodensatz
Rhamnose	Rötung am 1. bzw. 2. Tage			
Saccharose	am 4. Tag gerötet	2. Tag Rötung 9. Tag Bodensatz	2. Tag Rötung 4. Tag Reduktion	1. Tag Rötung	2.-4. Tag Rötung, 8. Tag Reduktion
Barsiekow II	2. Tag blau	2.-4. Tag blau	ab 2. Tag Rötung	

5. Saccharoselackmusbouillon wurde von der E-Rasse am 4. Tage gerötet; die Gruppe des Bazillus Ceylonensis A rief bereits am 2. Tage Rötung und nach 9 Tagen einen Bodensatz hervor. Auch die Stämme des Bazillus Ceylonensis B röteten die Saccharose am 2. Tage, riefen jedoch nach 4—5 Tagen Reduktion hervor; die gleiche Eigenschaft kam den Münster-Stämmen zu. Die mit dem Bazillus Madampensis beimpfte Saccharose zeigte am 2. Tage eine intensive Rötung.

6. Rhamnoselackmusbouillon wurde von sämtlichen Stämmen nach 1 bzw. 2 Tagen gerötet.

7. In Milchzuckernutroselackmuslösung (Barsikow II) wurde von der E-Rasse und der Gruppe des Bazillus Ceylonensis A nach 2—4 Tagen ein Farbumschlag in blau, von der Gruppe des Bazillus Ceylonensis B, dem Bazillus Madampensis und den Münster-Stämmen eine Farbveränderung in rot hervorgerufen.

Die gefundenen Reaktionen der Castellani-Stämme stimmen mit den Angaben Castellani's im großen Ganzen gut überein, wenn man von kleinen Verschiedenheiten in der Zeitdauer der Gerinnung absieht.

Die Tabelle zeigt ferner deutlich, daß zwischen dem Typus Ceylonensis A und der Pseudo-Ruhr E kein wesentlicher Unterbesteht, d. h. diese Typen sind biologisch identisch. Die leichten Unterschiede in der Vergärung der Saccharose dürften keine Rolle spielen. Die Typen des Ceylonensis B lassen sich von der E-Ruhr allein schon durch ihre positive Indolbildung gut abtrennen, außerdem ist auch ihr Verhalten in Barsikow II typisch andersartig. Der Typus Madampensis läßt sich nach dieser biologischen Prüfung noch nicht mit geügender Sicherheit als für sich bestehend herauskennen; die Stämme Mü 7, 10 und 18 zeigen deutlich ihre Verwandtschaft zu den Coli-Bazillen, sie unterscheiden sich jedoch von den echten Coli-Bazillen durch ihre weit langsamere Milchgerinnung und von den Ceylonensis-B-Typen durch die Gasbildung in Traubenzucker.

Im Anschluß an die Prüfung dieser biologischen Eigenschaften wurde nach weiteren Abtrennungszeichen gefahndet, um die Differentialdiagnose der einzelnen Gruppen zu vervollkommnen, evtl. sogar zu vereinfachen. Zu diesem Zwecke wurde zunächst die wachstumshemmende Wirkung von Farbstoffen beobachtet.

Von einer 0,1%igen Trypaflavin-Lösung wurden jeweils 1,5 ccm mit 20 ccm flüssigen Agar vermischt und davon Platten gegossen (Ph des Agars 7,5). Von einer frischen 24 Std. Kultur der oben genannten E-, Castellani- und Münster-Stämme wurde eine Oese in 5 ccm Bouillon geimpft und von dieser nach sechsstündiger Bebrütung bei 37° jeweils eine Oese auf die Trypaflavinplatten ausgestrichen, die dann über Nacht in den Brutschrank gestellt wurden. Am folgenden Tage war folgendes festzustellen:

Die Stämme der E-Rasse und des Bazillus Ceylonensis A waren ziemlich kräftig gewachsen. Dieselbe Widerstandsfähigkeit bewiesen der Bazillus Madampensis sowie die Münster-Stämme, während die Typen des Bazillus Ceylonensis B eine weitaus geringere Resistenz zeigten. So waren die Stämme Cast. Orig. und Cast. RR gar nicht gewachsen und die Stämme Cast. LV und Cast. RW nur in vereinzelten Kolonien.

Tabelle 2.

Wachstum der Milchzucker vergärenden Ruhrtypen auf 0,1%igen Trypaflavinplatten.

E 690	E 700	E 702	E 708	E 721	E 1120
++	++	++	++	++	++

Cast AD	Cast PD	Cast Sh	Cast Z	Cast Orig.	Cast LV	Cast RR
++	++	++	++	Ø	(+)	Ø

Cast RW	Cast H	Mü 7	Mü 10	Mü 18
(+)	++	++	++	++

Daraus ist zu ersehen, daß die coliartigen Münsterstämme auch hierdurch von der Gruppe des Bazillus Ceylonensis B abgetrennt werden können und ebenfalls der Bazillus Madampensis, der sich hier wie die Münster-Gruppe bzw. die E-Rasse verhält.

Weiter wurde versucht, ob etwa in serologischer Hinsicht geeignete Verschiedenheiten zwischen der E-Rasse und den drei Metadysenteriegruppen (die Münster-Gruppe wurde zu diesen und den späteren Versuchen nicht mehr herangezogen) aufweisbar sind.

Es wurden von den agglutinierenden Imunseren der Stämme E 700, Cast. PD und Cast. Orig. mit physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen von dem Titer 1:50, 1:100, 1:200, 1:400,

1:800, 1:1600 und 1:3200 hergestellt. Jeweils 1 ccm dieser Verdünnungen und zur Kontrolle 1 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung wurden mit 4 Tropfen einer frischen Bakterienaufschwämmung von den E- und Castellani-Stämmen beschickt. Nach 24 Stunden (bei Zimmertemperatur) wurde mittels des Agglutinoskops nachgesehen, ob und wie weit bei den einzelnen Stämmen eine Agglutionation stattgefunden hatte. Das Resultat war folgendes:

1. Das Serum E 700 agglutinierte die E-Stämme noch in sehr großer Verdünnung (1:1600 — 1:3200), alle sehr fein. Von der Gruppe Ceylonensis A war der Stamm Cast. PD spontan agglutiniert. Bei Cast. Z war nur in der Verdünnung 1:100 eine Spur und bei Cast. AD in dem Titer 1:200 eine Agglutination zu erkennen. Cast. Sh war noch bei 1:800 in Spuren und sehr fein agglutiniert. Von der Gruppe Ceylonensis B war Cast. RR gar nicht, Cast. Orig. und LV spontan und Cast. RW bei dem Titer 1:100 agglutiniert. Cast. H ließ nur in der Verdünnung 1:200 — 1:400 in Spuren eine Agglutination erkennen.
2 Das Serum Cast. PD agglutinierte die E-Rasse in der starken Verdünnung 1:3200. Cast. AD und Cast. SH wurden ebenfalls ziemlich hoch agglutiniert (1:800 — 1:1600), Cast. Z dagegen nur bis 1:200. Cast. PD, Cast. Orig. und Cast. LV waren selbstverständlich wieder spontan agglutiniert. Cast. RR war nur in der Verdünnung 1:50 in Spuren agglutiniert, Cast. RW bis zum Titer 1:100, Cast. H. bis 1:800 in Spuren.
3. Das Serum Cast. Orig. zeigte bei den E-Stämmen eine wesentlich geringere Agglutinationsfähigkeit (1:200 — 1:400). Von den Ceylonensis-A-Typen agglutinierte Cast. AD und Cast. Sh etwa in der Höhe der E-Stämme, Cast. Z wiederum gering (1:100). In der Ceylonensis-B-Gruppe zeigte Cast. RR nur einen Titer 1:100, Cast. RW 1:400. Cast. H war bis 1:400 — 1:800 agglutiniert.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß auch serologisch ein deutlicher Zusammenhang der E-Ruhr mit den Typen der sogenannten Ceylonensis-A-Gruppen vorhanden ist, da das Serum Cast. PD die E-Ruhr-Stämme gleich hoch agglutinierte wie das E-Ruhr-Serum. Allerdings wurden die Stämme der Ceylonensis-A-Gruppe, insbesondere Cast. Z sowohl vom E-Serum wie vom Cast.-PD-Serum schlechter agglutiniert, sodaß man im Zusammenhang mit den leichten biologischen Verschiedenheiten eine gewisse Besonderheit des Ceylonensis-A-Typus vermuten könnte. Die Agglutination mit dem Serum Cast. Orig. war wenig aufschlußreich und dienlich zur Unterscheidung.

Tabelle 3.

Agglutinationsfähigkeit der E- und Castellanitypen:

	Serum E 700	Serum Cast. P D	Serum Cast. Orig.
E 690	1 : 3200 in Spuren	1 : 1600 in Spuren sehr fein	1 : 200 fein
E 700	1 : 3200	1 : 1600 in Spuren sehr fein	1 : 200 fein
E 702	1 : 3200 in Spuren fein	1 : 1600 in Spuren sehr fein	1 : 200 fein
E 708	1 : 3200	1 : 1600 in Spuren sehr fein	1 : 400
E 721	1 : 3200 in Spuren	1 : 1600 - 1 : 3200 in Spuren sehr fein	1:200 - 1:400 in Spuren
E 1120	1 : 3200 in Spuren	1 : 1600 - 1 : 3200 sehr fein	1 : 200 fein
Cast. A D	1 : 800 : 1600	1 : 200	1 : 400
Cast. P D		spontan agglutinabel	spontan
Cast. Sh	spontan agglutinabel 1 : 800	1 : 800 in Spuren fein	1:400 - 1:800
Cast. Z	1 : 200	1 : 100 in Spuren	1:100 in Spur.
Cast. Orig.	spontan agglutinabel	spontan agglutinabel	spontan
Cast. L V	spontan agglutinabel	spontan agglutinabel	spontan
Cast. R R	1 : 50 in Spuren	— —	1 : 100
Cast. R W	1 : 100 in Spuren	1 : 100 in Spuren	1 : 400
Cast. H	1 : 800	1 : 200 - 400 in Spuren	1:400 - 1:800

Schließlich wurde die spezifische Bakteriophagenwirkung geprüft, die sich ja als Mittel zur Unterscheidung der Flexner-Ruhrrassen nach den Untersuchungen von Sartorius weitgehend bewährt hatte.

Bei dieser Bakteriophagenwirkung handelt es sich um ein in seiner Natur wahrscheinlich fermentatives Agens, das von d'Hérelle gefunden ist. Diese Lysine sind in der Natur sehr verbreitet und lassen sich mit den Bakterien beliebig lange fortpflanzen. Dabei vermögen sie die Bakterien, mit denen sie fortgezüchtet werden, bis zu einem gewissen Grade aufzulösen. Sie wirken in der Regel polyvalent auf verschiedene Bakterien, gelegentlich aber auch nur auf eine einzelne Keimart. Sie kommen auch im Mensch- und Tierdarm vor. So ist besonders der Hühnerkot reich an Bakteriophagen. Sartorius fand, daß daher stammende Phagen sich durch bestimmte Züchtungsmaßnahmen soweit bringen lassen, daß sie die serologische Flexner-Ruhr-Typen in zwei voneinander getrennte Gruppen zerlegen, eine stark lysosensible (H, D etc.) und eine nicht oder nur schwach lysosensible (A. B y_1 Y_2). Man kann einen Erreger schon in wenigen Stunden der einen oder anderen Gruppe einreihen. Sartorius fand weiter, daß bestimmte Hühnerkotbakteriophagen durch Weiterzüchtung mit den einzelnen Rassen der Pseudo-Ruhr eine Zustandsspezifität der Wirkung annehmen, die für jede Rasse etwas Charakteristisches hat, und daß diese charakteristischen Wirkungen für die praktische Erleichterung der Differentialdiagnostik große Bedeutung haben.

Diese Tatsache zu Grunde legend wurde versucht, ob die Bakteriophagenwirkung sich auch bei der differentialdiagnostischen Unterscheidung der hier untersuchten Gruppen verwenden ließ.

Von einer 24 Std. Kultur des Stammes Po 5, einem Pseudoruhr-D-Stamm, wurde eine Oese in ein mit 5 ccm Bouillon gefülltes Röhrchen gegeben. Nach intensivem Durchschütteln wurden von dieser Bakterienbouillon mittels einer Kapillare drei Tropfen in zwei weitere mit 5 ccm Bouillon gefüllte Röhrchen gegeben. In eines dieser beiden Röhrchen kam dann noch 0,1 ccm der 125 000fachen Verdünnung eines ruhrphagenhaltigen Filtrats. Das andere Röhrchen blieb zur Kontrolle ohne Phagen. Nach 6stündiger Bebrütung bei 37 ° war in dem mit dem Phagen beschickten Röhrchen Klärung festzustellen. Diese Phagenbouillon wurde durch einen Porzellanfilter filtriert und damit war der Phag für den weiteren Versuch erhalten.

Am nächsten Tage wurde von der 24 Std. Kultur der E- und Castellani-Stämme je eine Oese in je 5 ccm Bouillon geimpft. Von dieser Bakterienbouillon wurden jeweils drei Tropfen in zwei weitere Röhrchen gegeben und in eines dieser beiden jedesmal 0,1 ccm der 125 000fachen Verdünnung des Phagfiltrats.

Nach 6stündigem Stehen im Brutschrank war dann gegenüber den Kontrollen folgendes festzustellen:

Sämtliche mit E-Stämmen und Phag beschickten Bouillonröhrchen waren sehr stark, bei E 1120 sogar vollkommen aufgeklärt. Bei den Vertretern des Bazillus Ceylonensis A hatte der Phag bei Cast. AD wieder sehr starke Aufklärung, bei Cast. Sh starke, bei Cast. PD und Cast. Z ziemlich starke Aufklärung verursacht. Dagegen war bei allen anderen Castellanitypen nicht die geringste Lysosensibilität festzustellen.

Nach weiteren 12 Std. war das Resultat genau gleiche geblieben.

Nach 6 Std. wurde außerdem von jeder Bakterien-Phagenbouillon je ein Ausstrich auf eine Blutplatte gemacht und diese über Nacht in den Brutschrank gestellt. Am nächsten Morgen war ungefähr die gleiche Wirkung wie in der Bouillon festzustellen. Die E-Stämme waren nur in ganz vereinzelten Kolonien gewachsen. Von den Castellani-Stämmen waren die Vertreter des Ceylonensis-A-Typus auch nur ganz schwach gewachsen, während die übrigen Castellani-Typen ein sehr üppiges Wachstum zeigten.

Tabelle 4

Die Wirkung des Phag 1 (Po 5) auf die E- und Castellani-Stämme.

	Aufklärung nach 6 Std.	Aufklärung nach 12 Std.	Wachstum auf der Blutplatte
E 690	+++	+++	+++
E 700	+++	+++	+++
E 702	+++	+++	+++
E 708	+++	+++	+++
E 721	+++	+++	+++
E 1120	++++	++++	+++
Cast AD	+++	+++	++
Cast PD	+—++	+—++	++
Cast Sh	++	++	++
Cast Z	+—++	+—++	+—++
Cast Orig.	Ø	Ø	Ø
Cast LV	Ø	Ø	Ø
Cast RR	Ø	Ø	Ø
Cast RW	Ø	Ø	Ø
Cast H	Ø	Ø	Ø

Das Ergebnis dieses Versuches zeigt also ebenfalls, daß eine deutliche Verwandtschaft zwischen der E-Rasse und der Gruppe des Bazillus Ceylonensis A infolge ihrer gemeinsamen Eigenschaft der Lysosensibiltät besteht. Die Intensivität der Phagempfindlichkeit ist jedoch bei der E-Rasse stärker als bei dem Ceylonensis-A-Typus. Diese Tatsache spricht also wiederum dafür, daß diese beiden Gruppen nicht gänzlich identisch sind. Bei den übrigen Castellani-Typen war nicht die geringste Lysosensibilität festzustellen.

Dadurch ist also der Beweis erbracht, daß der Phagenversuch tatsächlich ein weiteres Mittel zur Differenzierung der E- und Castellanitypen ist und nicht nur das, sondern er stellt auch im Vergleich zu den bisher bekannten Versuchen ein bedeutend geeigneteres Verfahren der Differenzierung dar, zumal er bereits in der Zeit von 6 Std. zum Ergebnis führt.

Nach S a r t o r i u s läßt sich ein Hühnerbakteriophag durch eine längere Phagenpassage mit einzelnen Stämmen hochzüchten d. h. spezifizieren. Die Gegenseitigkeitswirkungen der mit den verschiedenen Rassen spezifizierten Phagen und der einzelnen Rassen weisen in erleichterter Weise auf die antigenen Verwandtschaften hin.

Um zu sehen, ob und wie weit dieses zur Identifizierung der E- und Castellanitypen zutraf, wurden von beiden einige Stämme und außerdem noch ein Pseudoruhr-D-Stamm zum Vergleich hochgezüchtet. Gewählt wurden die Stämme E 690, E 700, Cast. PD, Cast. LV, Cast. Orig. und der D-Stamm Po 5.

Der Gang der 8maligen Passage war der, daß als Ausgangsphag der Phag 1 nach obiger Versuchsanordnung jeweils mit einem der 5 Stämme zusammengebracht wurde. Am nächsten Tage wurde das Phagfiltrat hergestellt und dieses wurde wieder mit demselben Stamm vereinigt wie am Tage zuvor. Dasselbe geschah an den 7 folgenden Tagen in der gleichen Weise. Dann waren die Phagen als hinreichend spezifiziert betrachtet.

Mit diesen hochgezüchteten Phagen und den gleichen Stämmen wurden dann kreuzweise die Gegenseitigkeitswirkungen geprüft, jeweils in der Form des einfachen Phagenversuches wie oben.

Nach 6 Std. war folgendes festzustellen:

Der hochgezüchtete P h a g P o 5 bewirkte nur völlige Auflösung des Stammes Po 5, während er den übrigen Stämmen gegenüber wirkungslos blieb.

Phag-PD wirkte nicht auf den Stamm Po 5, stark auflösend auf E 690, vollkommen auflölend auf Cast. PD, ziemlich stark auflösend auf Cast. LV und Cast. Orig.

Phag E 690 und Phag 700 blieben ebenfalls wirkungslos gegenüber Po 5, zersetzten E 690 vollkommen und bewirkten eine starke Aufklärung bei Cast. PD, eine ziemlich starke bei Cast. LV und Cast. Orig.

Phag Orig. und Phag IV griffen Po 5 nicht an, lösten ihre eigenen Stämme vollkommen auf, während Cast. PD und E 690 ziemlich stark angegriffen wurden. Die Ergebnisse nach weiteren 12 Std. und auf der Blutplatte waren fast die gleichen.

Tabelle 5.

Die Gegenseitigkeitswirkungen spezifizierter D-, E- und Castellani-Phagen einerseits und der zugehörigen Stämme andererseits.

	Phag Po 5	Phag E 690	Phag E 700	Phag Cast PD	Phag Cast Orig.	Phag Cast LV
6 Std.	++++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Po 5, 18 Std.	++++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
Blutpl.	++++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
6 Std.	Ø	++++	++++	+++	++	++
E 690, 18 Std.	Ø	++++	++++	+++	++	++
Blutpl.	Ø	++++	++++	++	+	+
6 Std.	Ø	+++	+++	++++	++	++
Cast PD, 18 Std.	Ø	+++	+++	++++	++	+
Blutpl.	Ø	+++	+++	+++	+	+
6 Std.	Ø	++	++	++	++++	+++
Cast LV, 18 Std.	Ø	++	++	++	++++	+++
Blutpl.	Ø	++	+	+	++++	+++
Cast Orig. 18 Std.	Ø	++	++	+++	++++	++++
6 Std.	Ø	++	++	++	++++	+++
Blutpl.	Ø	++	+	++	+++	+++

Auch hieraus ersieht man wieder die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Milchzucker vergärenden Ruhrtypen untereinander, während die sich zu anderen Pseudodysenterie-

gruppen auch bezüglich der Bakteriophagenwirkung gegensätzlich verhalten. Vor allem aber bietet dieser Versuch zur Differenzierung der E- und Castellanitypen eine noch bessere Handhabe als die vorige, da mit einem hochgezüchteten Phagen mit größerer Sicherheit auch schon nach 6 Std. gesagt werden kann, ob der fragliche Stamm der ihm zugehörigen Gruppe angehört oder nicht.

Zusammenfassung.

1. Als Milchzucker vergärende Ruhrerreger kommen neben der Kruse-Sonneruhr (Pseudoruhr-E) auch Gruppen von Erregern vor, die mehr oder minder schon coliartige Eigenschaften aufweisen.
2. Zur diagnostischen Trennung der in Frage kommenden Gruppen können einmal charakteristische biologische Unterschiede, ferner aber das Verhalten auf bestimmten Farbplatten und gegenüber zustandsspezifischen Phagen herangezogen werden.
3. Die agglutinatorische Abtrennung kommt im wesentlichen nur für die Kruse-Sonne-Rasse in Frage, bei den übrigen Gruppen ergaben sich durch Spontanagglutinierbarkeit und mangelhafte Agglutininbildung Schwierigkeiten.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. F. Sartorius für die freundliche Ueberlassung des Themas und des Materials, wie für seine liebenswürdige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

LITERATUR:

1. Sartorius: Zur Ruhrdiagnostik. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 111, S. 267, Jahrg. 1929.
2. Braun u. Weil: Ueber den Ruhrbazillus Kruse-Sonne. Centralblatt f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 109, S. 16, 1928.
3. Braun u. Baake: Zur Biologie des Bazillus Kruse-Sonne. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 106, S. 462, 1928.
4. Sartorius: Klinik und Ruhrforschung. Med. Klinik 1932, Nr. 23, S. 1.
5. Murakani: Ueber Milch gerinnende Arten von Pseudoydsenteriebazillen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 101, S. 377, 1927.
6. Braun: Zur Aetilogie der bazillären Ruhr. Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 91, S. 304, 1928.
7. Castellani: Metadysenterie. The Lancet 1929 p. 370.
8. Castellani: Die Klassifizierung der Dysenteriebazillen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 125, S. 37, 1932.
9. Sartorius u. Reploh: Neue Ergebnisse der praktischen Differenzierung der Ruhrtypen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 122, S. 135, 1931.
10. Sartorius: Die Bedeutung der Bakteriophagie für die Trennung und Verwandtschaftsbeziehungen der Pseudoruhrrassen. Zeitschr. f. Imunitätsforschung, Bd. 73, S. 313, 1932.
11. Sartorius u. Reploh: Zur Vereinfachung der Differentialdiagnostik der Pseudoruhrbazillen. Klin. Wochenschr. 1931, Nr. 48, S. 2216.
12. Toyoda: Verwendung eines Bakteriophagen in der bakteriologischen Diagnostik. Dt. Med. Wochenschr. 1931, S. 451.
13. Shiga: Zur Einteilung und Benennung der Dysenteriebazillen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, Orig. Bd. 130, S. 1, 1934.

Lebenslauf.

Ich, Franz Coersmeier, kath. Konfession, wurde geboren am 17. Oktober 1908 als Sohn des Amts- und Landgerichtsrats August Coersmeier und seiner Ehefrau, Maria geb. Fischer, zu Burgsteinfurt i. W. Nach Besuch der Volksschule und Vorbereitung durch Privatstunden in Nieheim besuchte ich die Rektoratschule in Lippstadt und später das humanistische Gymnasium in Warburg, wo ich im März 1929 die Reifeprüfung bestand. Ich studierte darauf in Marburg zwei und in Münster drei vorklinische Semester. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Juli 1931 an der Universität Münster (Westf.). Die klinischen Semester verbrachte ich in Münster und bestand dort im Dezember 1934 die ärztliche Staatsprüfung. Seit Ende Dezember 1934 bin ich Medizinalpraktikant an der Raphaelsklinik in Münster.